

## Efeito da fitotoxidez de antibióticos no controle de contaminações bacterianas no cultivo *in vitro* de bastão-do-imperador

Silva Júnior, Jessé Marques;<sup>2</sup>; Paiva, Renato; Silva, Luciano Coutinho<sup>3</sup>; Lemos, Eurico Pinto<sup>4</sup>; Toyota, Márcia.

<sup>1</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/ Fisiologia Vegetal (UFLA) bolsista CAPES, -mail: jesseagronomo@yahoo.com.br; <sup>2</sup> Professor Associado, Depto. de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal (UFLA), e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>3</sup> Graduando em Agronomia (UFLA) bolsista CNPq; Professor Depto. De Fitotecnia e Fitossanidade CECA/UFAL; <sup>5</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/ Fitopatologia (UFLA) bolsista CNPq.

O Nordeste Brasileiro, situado próximo a Linha do Equador, possui clima quente, com pequena variação no decorrer do ano e forte luminosidade, dispõe de regiões com condições que possibilitam o cultivo de numerosas espécies ornamentais, tanto a campo aberto, como sob proteção de casa-de-vegetação, viveiros ou estufas. A partir da última década do século XX, a floricultura na região Nordeste tem apresentando acentuado desenvolvimento, o mercado consumidor regional, antes abastecido em sua quase totalidade pela produção advinda de outras regiões tradicionalmente produtoras de flores de clima temperado, passou a ser abastecido, em maior proporção, com a produção local, além da introdução de maior quantidade de espécies de clima tropical (Brainer & Oliveira, 2006).

As principais doenças fitopatogênicas que acometem a família das *Zingiberaceae* são causadas pelos agentes *Ralstonia solanacearum* e *Rhizoctonia solani*, bactéria e fungo causadores de podridão de rizoma e de raízes e “damping off” respectivamente, além de murcha bacteriana, danificando toda a produção vegetativa e floral da planta, além de apresentar um agravante que é a disseminação rápida, pelo manuseio do material vegetativo, que basta um foco na produção para que esta seja toda comprometida (Thammakijawat, et al., 1999; Vudhivanich, 2002, Lins & Coelho, 2004). O objetivo deste trabalho foi avaliar efeito fitotóxico de antibióticos no controle de bactérias no cultivo *in vitro* de bastão-do-imperador.

### MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Setor de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Lavras. Plantas provenientes do cultivo *in vitro*, após um certo tempo apresentaram intensa contaminação por bactérias provavelmente endofíticas. Para solucionar tal contaminação, as plântulas foram submetidas a 4 diferentes tratamentos contendo 2 diferentes antibióticos e 2 diferentes concentrações de cada um deles como pode ser vista na tabela 1.

Os antibióticos foram microfiltrados em MILLIPORI® 0,22 µm e adicionados ao meio MS acrescido de 3 mg L<sup>-1</sup> de BAP após o resfriamento.

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com 4 tratamentos e 15 repetições, cada repetição era composta por um tubo de ensaio e uma plântula.

Os dados das variáveis analisadas foram submetidos à análise de variância pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, sendo as avaliações diárias até o 30º dia de cultura, quando ocorreu o primeiro subcultivo e, posteriormente, a cada subcultivo mensal, observando o aparecimento ou não de contaminações.

Tabela 1. Tratamentos utilizados para combater contaminação bacteriana.

Tratamento	Antibiótico	mg L <sup>-1</sup>
T1	Rifampicina	300
T2	Rifampicina	150
T3	Amoxicilina	500
T4	Amoxicilina	250

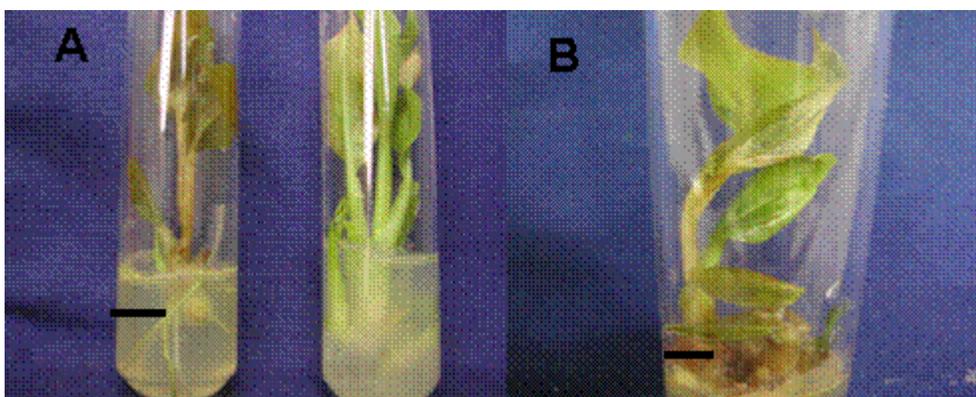


Figura 1. Aspecto do cultivo *in vitro* de bastão-do-imperador. A) planta apresentando desenvolvimento bacteriano (esquerda), planta sadia (direita) e B) detalhe da contaminação bacteriana. A barra mede 1 cm.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os antibióticos rifampicina e amoxicilina, testados neste trabalho foram eficientes no controle das contaminações bacterianas, mas com relação às concentrações, apenas os tratamentos T1 (Rifampicina 300 mg L<sup>-1</sup>) e T2 (Amoxicilina 500 mg L<sup>-1</sup>), obtiveram sucessos. Os outros dois tratamentos T2 (Rifampicina 150mg L<sup>-1</sup>) e T4 Amoxicilina 250 mg L<sup>-1</sup>), não controlaram a contaminação, o que provocou a morte das plântulas (Figura 1). Viana et al. (1997), utilizando rifampicina (300 mg L<sup>-1</sup>) para a descontaminação de explantes de mamoeiro proveniente do campo, obtiveram de 70 a 75% de explantes saudios.

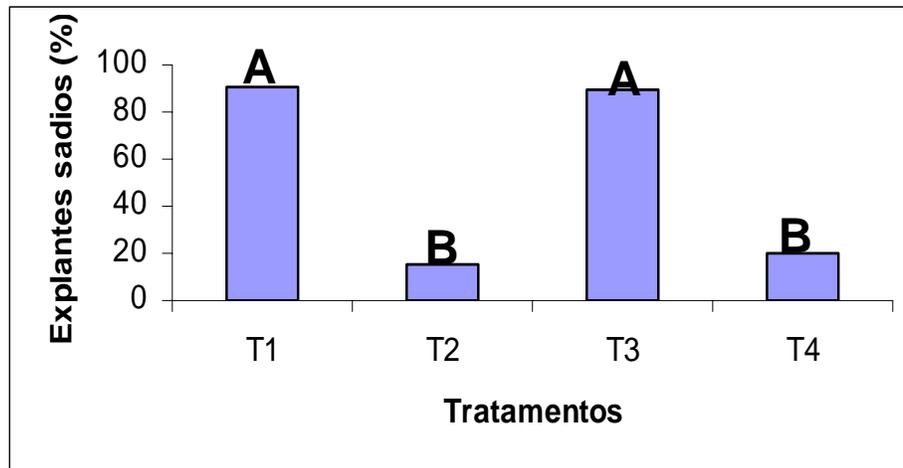


Figura 1- Eficiência dos antibióticos rifampicina nas concentrações (150 e 300 mg L<sup>-1</sup>) T2 e T1 respectivamente; e amoxicilina (250 e 500 mg L<sup>-1</sup>) T4 e T3 respectivamente, no controle das contaminações bacterianas em plântulas de bastão-do-imperador.

Muitos antibióticos podem causar diminuição na taxa de crescimento e multiplicação de plantas *in vitro* no decorrer dos subcultivos, porém dos tratamentos que foram eficientes no controle de bactérias testados neste trabalho, apenas T3 (500 mg L<sup>-1</sup>) ocasionou sensível redução no número médio de brotações (Figura 2).

Como pode ser observado na Figura 2, para o número médio de brotações, o tratamento com rifampicina 300 mg L<sup>-1</sup> não interferiu no desenvolvimento de plântulas de bastão-do-imperador no decorrer dos subcultivos, o que está de acordo com trabalhos realizados por Young et al., 1984, os quais observaram que o antibiótico rifampicina tem sido considerado eficiente para controlar ou suprimir contaminação endofítica em cultura de tecidos de várias espécies de plantas e que apenas a rifampicina, entre seis antibióticos analisados, controlou a contaminação bacteriana sem alterar a taxa de divisão celular vegetal, em explantes de *Helianthus tuberosus*.

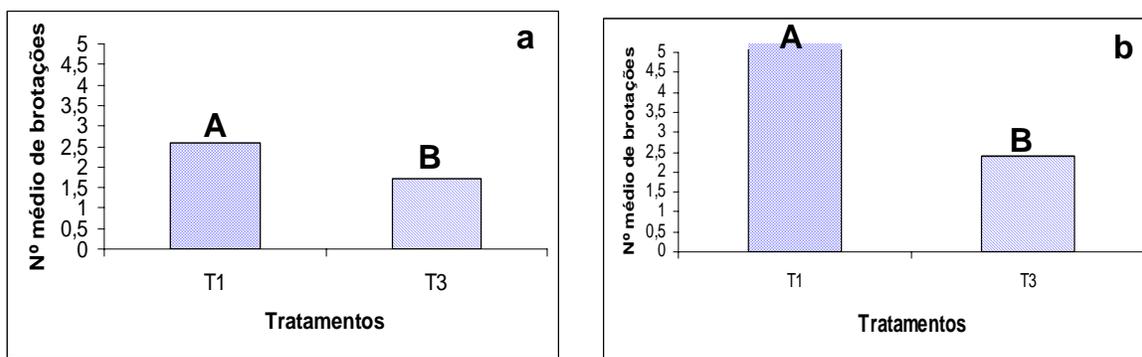


Figura 2a- Número médio de brotações no primeiro subcultivo aos 30 dias após tratamento com antibiótico. T1 (Rifampicina 300 mg L<sup>-1</sup>) e T2 ( Amoxicilina 500 mg L<sup>-1</sup>). 2b- Número médio de brotações no T1 (Rifampicina 300 mg L<sup>-1</sup>) e T2 ( Amoxicilina 500 mg L<sup>-1</sup>) no segundo subcultivo aos 60 dias após tratamento com antibiótico.

A utilização de antibióticos no cultivo *in vitro*, é interessante para o controle de contaminações bacterianas endógenas que frequentemente representam sérios

problemas no estabelecimento *in vitro* das culturas (Grattapaglia e Machado, 1998). No entanto, é consenso que mesmo assim, dificilmente se consegue eliminar completamente as bactérias, pois os antibióticos normalmente utilizados em cultura de tecidos vegetais possuem ação bacteriostática e não bactericida.

## CONCLUSÃO

Rifampicina 300 mg L<sup>-1</sup> é indicado para controle de bactérias em plântulas *in vitro* de bastão-do-imperador.

O cultivo dos explantes em meio nutritivo contendo amoxicilina com 500 mg L<sup>-1</sup> ocasionou sensível redução na taxa de multiplicação e sintomas de fitotoxidez nas plântulas.

Nas concentrações de 150 e 250 mg L<sup>-1</sup> de rifampicina e amoxicilina, respectivamente, não foram eficientes no controle das bactérias, quando adicionados ao meio de cultivo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRAINER, M<sup>a</sup>. S. C. P & OLIVEIRA, A. A. P. **Perfil da Floricultura no Nordeste Brasileiro**. Artigo apresentado no XLIV Congresso da Sober, realizado em Fortaleza no período de 23 a 27 de julho de 2006.

GRATTAPAGLIA, D. & MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. & BUSO, A. J. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformação de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/CNPH, 1998. v. 1, p. 183-260.

LINS, S. R. O. & COELHO, R. S. B. Ocorrência de doenças em plantas ornamentais tropicais no Estado de Pernambuco. **Fitopatologia Brasileira**, v 29, n. 3, Brasília, May/June, p. 332-335, 2004.

MACIEL, J. L. N.; DUARTE, V. & SILVEIRA, J. R. P. Densidade populacional de *Ralstonia solanacearum* em cultivares de batata a campo. **Ciência Rural**, v 34, n. 1, Santa Maria, Jan./Fev, p. 19-24, 2004.

VIANNA, G. R. ; COUTO, F A. A.; OLIVEIRA, A. B. de.; ZAMBOLIM L. & MARIA, J. A rifampicina na descontaminação bacteriana de explantes de mamoeiro provenientes do campo. **Bragantia** vol. 56 n. 2 Campinas 1997.

THAMMAKIJJAWAT, P.; THAVEECHAI, N.; PARADHONUWAT, A.; WANNAKAIROJ, S. & SUTHIRAWUT, S. Bacterial rhizome rot of patumma and detection of seed-borne rhizome. In: **37th Kasetsart University Annual Conference**, 3-5 February, Ed. Oates, C. G. Text and Journal Publication Co, Ltd, Bangkok, Thailand:. 295-302, 1999.

YOUNG, P. M.; HUTCHINS, A. S. & CANFIELD, M. L. Use of antibiotics to control bacteria in shoot cultures of woody plants. *Plant Science Letters*, Limerick, **34**:203-209, 1984.

PALAVRAS CHAVES; *Zingiberaceae*, rifampicina, amoxicilina, cultura de tecidos.